

CULTIVOS MASIVOS DE *DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS* Y *D. SIBONEY* (ACARI, PYROGLYPHIDAE) EN UN MEDIO HIPOALERGÉNICO

Luisa Ventosa¹
Naomi Cuervo¹

ABSTRACT

MASIVE CULTIVE OF *DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS* AND *D. SIBONEY* (ACARI, PYROGLYPHIDAE) ON HIPOALERGENIC MEDIA. *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897) and *Dermatophagoides siboney* (Dusbabek et al., 1982) were reared on a hypoallergenic media, that permit to improve all the contents of the cultures for preparation of allergic extracts, to diagnostic and treatment of allergic disease.

KEYWORDS. Mites, Pyroglyphidae, cultures, hypoallergenic, extracts.

INTRODUCCIÓN

La producción masiva de ácaros piroglífidos constituye una de las principales dificultades en la preparación de alérgenos específicos para diagnóstico y tratamiento de este tipo de alergia. En este sentido, el medio de cría resulta un factor limitante de importancia. Numerosas investigaciones han sido conducidas a la obtención de medios de cría que se ajusten a los requerimientos nutricionales del grupo (BRONSWIJK), 1972. En general, estos ácaros crecen satisfactoriamente en medios ricos en proteínas, fundamentalmente harina de pescado, daphnia y descamaciones humanas, utilizándose estos productos solos o en combinación con levadura.

La alta antigenicidad de los medios anteriormente mencionados, los hace inapropiados para cultivos destinados a la producción de extractos alérgicos (SPIEKSMAN, 1969, 1976, 1985).

El objetivo consistió en elaborar un medio de cría hipóalérgico capaz de proporcionar altos valores de crecimiento y de desarrollar las especies de interés, que

1. Instituto de Ecología y Sistemática. Carretera de Varona km 3/2, Capdevila, Boyeros, A.P. 8029 C.P. 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfonos: (537) 57-8266 y 57-8010. Fax: (537) 24-9031 57-8266. E-mail: ecologia@unepnet.inf.cu

podiera ser utilizado junto a la biomasa de ácaros desarrolladas en él, como materia prima en la preparación de extractos específicos de ácaros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos especies de ácaros que viven en el polvo doméstico de Cuba, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897) y *Dermatophagoides siboney* (Dusbabek et al., 1982). Se elaboraron dos medios para la cría (Medio 1 y Medio 2), en forma de harina fina, de textura homogénea, con partículas entre 0,2 y 0,8 mm tomando como control una mezcla 1:1 de harina de pescado y levadura anteriormente evaluada en el laboratorio con buenos resultados. En los medios, se sustituyó totalmente la harina de pescado por otros elementos de origen vegetal, con el objetivo de disminuir el nivel antigénico en los mismos. Los elementos proteicos utilizados fueron soya y levadura.

Se realizó un análisis bacteriológico a ambos medios, sin que se detectara afectación sanitaria. En los recipientes de cría, se repartió el medio a razón de 1/3 de su capacidad, ajustándose durante 24-72 horas en una incubadora, a los requerimientos de humedad y temperatura de las especies a criar, *D. pteronyssinus* (25° C 70-75% HR) y *D. siboney* (-27° C y 75-80% HR). Pasado este tiempo, los frascos se inocularon de un cultivo stock, con alrededor de 100-200 propágulos que no habían recibido alimento 24 horas antes. La boca del recipiente se selló con papel de filtro y parafina, manteniéndose los cultivos en las mismas condiciones durante 10-16 semanas. En esta etapa, resulta muy importante airear los cultivos diariamente a fin de garantizar a los ácaros un intercambio gaseoso adecuado.

Las observaciones de los niveles de crecimiento se hicieron diariamente bajo microscopio estereoscópico, utilizando para las mismas una escala de cuatro grados establecida al efecto: 1er grado (1-10 ac/campo); 2do grado (10-20 ac/campo); 3er grado (40-50 ac/campo); 4to grado (más de 100 ac/campo)

Se mantuvieron los cultivos en un área de acceso controlado a fin de disminuir el riesgo de contaminación por hongos, sóccidos y ácaros depredadores.

El nivel antigénico de los medios a evaluar se estimó mediante test cutáneos en 35 pacientes alérgicos, utilizando histamina como control positivo y el buffer empleado en el proceso de extracción como control negativo. La dilución empleada fué de 1:100.000

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies, *D. pteronyssinus* y *D. siboney*, crecen satisfactoriamente en los dos medios evaluados, aunque con mejores rendimientos en el medio 1 (fig. 1). En el cultivo de *D. pteronyssinus*, se observa que el número de ácaros inoculados se mantiene estable o disminuye ligeramente hasta la semana 3-4 en que se produce un incremento significativo de la población. A partir de este instante, el crecimiento es notable hasta la semana 8-10 en que de nuevo se estabiliza y comienza a disminuir la población, concordando estos resultados con los SPIEKSMÁ (1985) para *D. pteronyssinus*. El cultivo de *D. siboney* presenta un desarrollo similar aunque el ciclo por características propias de la especie está desplazado 2-4 semanas, en relación a la especie mencionada (fig. 2).

Durante el pico de crecimiento, en ambos cultivos se observa una gran cantidad de ácaros bajo una capa gruesa de exuvias, ácaros muertos y excretas. El cultivo de *D. pteronyssinus*, puede considerarse apto para utilizar en la preparación de extractos a partir de la semana 8-10, mientras que el de *D. siboney*, lo está en la semana 12-14. En este último cultivo, se observó frecuentemente, la presencia de formas heteromorfas en el período de estabilización o disminución de la población, lo cual podría utilizarse como criterio de madurez del mismo.

Se prepararon extractos con los medios de cría utilizados, con los que se hicieron pruebas de toxicidad aguda y sub aguda, en modelos de laboratorio, específicamente ratones y curieles, según las normas y reglamentaciones establecidas. Posteriormente se

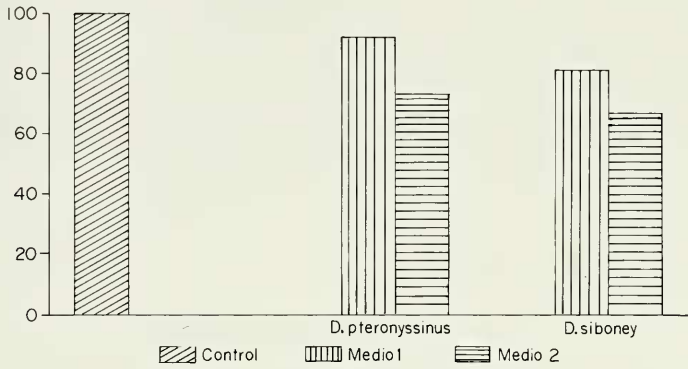


Fig. 1. Comparación de los niveles de crecimiento de las poblaciones de *Dermatophagoides pteronyssinus* y *P. siboney* (medio eval.).

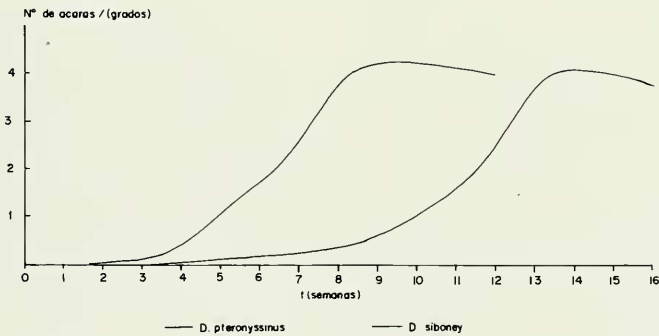


Fig. 2. Desarrollo de las poblaciones de *Dermatophagoides pteronyssinus* y *D. siboney* en condiciones de laboratorio.

efectuó la evaluación clínica de los extractos realizados con estos medios, a fin de verificar la hipoadalergenicidad de los mismos.

La hipoadalergenicidad del medio I permite la utilización del cultivo completo como materia prima en la preparación de extractos alérgicos de ácaros.

Esto representa un aumento potencial del valor antigénico del extracto, toda vez que pueden aprovecharse las excretas, exuvias y otros materiales relacionados con la fisiología de los ácaros de alto valor antigénico, parte de lo cual se pierde con el empleo de los métodos tradicionales de separación de ácaros del medio. El medio evaluado, permite la obtención de una materia prima bien definida y replicable, lo cual facilita la obtención de extractos de ácaros, mucho más homogéneos en cuanto a composición y actividad.

Agradecimientos. A las técnicas Damaris Torralba y Yunia Oliva del Centro Nacional de Biopreparados por su ayuda en el cuidado y mantenimiento de las crías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRONSWIJK J.E.M.H. van. 1972. Food preference of pyroglyphid house dust mites. **Beth. J. Zool.**, **22**: 335-340
- SPIEKSMÁ, F.T. M. 1969. Cultivation of house dust mites. **J. Allergy**, St. Louis **43**(3): 151-152
- . 1976. Cultures of house dust mites on animal skin scales. **Allergol Immunopathol**, **4**: 419-428.
- . 1985. Selection of source materials for reference preparations of mites. In: EHRLICH, P. ed. **International seminar regulatory control and standardization of allergen extracts 4^o**. 232 p.